

Die Primärantwort nach Übertragung subzellulärer Fraktionen von antikörperbildenden Zellen

von

Anna-Barbara Baenkler

aus

Bayreuth

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Die Primärantwort nach Übertragung subzellulärer Fraktionen von antikörperbildenden Zellen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Anna-Barbara Baenkler
aus
Bayreuth

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. Dr. H. Pauly
Referent: Prof. Dr. F. Scheiffarth
Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.72

Bayern

Meinen Eltern gewidmet

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

Einleitung	Seite	1
Regelung der Antikörperbildung		2
Versuchsordnung		14
Schematische Darstellungen		17
Ergebnisse		19
Tabellen		21
Diskussion		27
Zusammenfassung		30
Literatur		31

E i n l e i t u n g

Die Gesetze der Immunantwort sind heute bis in Einzelheiten aufgeklärt. Das Immunsystem ist als eine in sich geschlossene Einheit mit einer Vielzahl von speziellen Aufgaben und Funktionen erkannt. Die exakte Abstimmung einzelner Teilbereiche untereinander und die sinnvolle spezifische Leistung vom Erkennen des Antigens bis zur erfolgten Immunreaktion haben die Frage aufgeworfen, auf welche Weise dieses komplexe System gesteuert wird. So traten in jüngster Zeit kybernetisch orientierte Experimente in den Vordergrund, während frühere Untersuchungen allein der Aufdeckung von Kausalketten dienten. Der Nachweis eines Regelkreises im Rahmen der Immunantwort forderte dazu heraus, dessen Größen und Kennungen auffindig zu machen. Der Informationsfluß konnte letztlich durch Trennung verschiedener Zelltypen und subzellulärer Fraktionen verfolgt werden. Dazu kamen wesentliche Anstöße aus dem Gebiet der Virologie und Genetik, die zum Problem der Verschlüsselung Entscheidendes beitragen konnten. Um das Feld übersichtlich zu gestalten, wurde zunächst an genetisch identischen Individuen gearbeitet. Später wurden heterologe Systeme untersucht. Nachdem das Prinzip der Regelung sogar innerhalb unterschiedlicher Tierarten als gleichartig erkannt worden war, schien es sinnvoll, über den Antikörper oder die Einzelzelle hinaus das entscheidende Signal im Bereich der subzellulären Fraktionen zu suchen. Dies war das Ziel der vorliegenden Untersuchungen, wobei die durch zelluläre Antikörperbildung hervorgerufene lokale Hämolyse in Gel als Kriterium für die Stärke der Immunantwort herangezogen wurde.

Die Regulation der Immunantwort

Die Leistungsfähigkeit eines Organismus ist begrenzt. Dies gilt auch für seine einzelnen Organe. Im allgemeinen wird die Leistungsbreite nur in Notsituationen voll beansprucht; im Normalfalle bleibt stets eine gewisse Leistungsreserve. Verschiedene Mechanismen sorgen für diese Schonung der Organe, die in vielerlei Hinsicht nützlich und lebensnotwendig ist. Auch das Immunsystem ist diesem Gesetz unterworfen.

Es ist einleuchtend, daß die Immunreaktion begrenzt werden muß, unabhängig davon, ob sie phylakogen oder pathogen ist. Die Begrenzung selbst ist im wesentlichen durch drei voneinander unabhängige Vorgänge gewährleistet: 1. das Gleichgewicht 2. den Rückkoppelungsmechanismus 3. die Störgrößenaufschaltung.

Gleichgewichtssysteme finden sich auch in der unbelebten Natur, etwa als Regelung des Wasserspiegels eines Gewässers: im Normalfalle bleibt der Spiegel eines Sees konstant, nämlich bei quantitativ gleichem Zufluß und Abstrom. Wächst die Zufuhr, so steigt der Spiegel und damit zwangsläufig der Abfluß, bis ein neues Gleichgewicht gefunden ist. Der Informationsfluß geht hier in Stromrichtung, d.h. der Abfluß orientiert sich an der Zufuhr. Beide verhalten sich gleichsinnig, wobei der Abfluß in bestimmter, systemabhängiger zeitlicher Verzögerung der Zufuhr folgt. Derartiges findet sich auch mit Bezug auf Antikörperneusynthese und Antikörperspiegel im peripheren Blut. Der steten Nachlieferung bzw. Ausschlebung von Antikörpern in die Blutbahn steht eine permanente Elimination gegenüber, die sich an der Neubildung ausrichtet (24).

Da die Änderung des Abbaus überproportional zur Änderung der Neogenese steht, halten sich die Schwankungen des Antikörperspiegels im Normalfalle in engen Grenzen. Darüber hinaus wird die Stärke der Immunantwort auch durch einen Rückkoppelungsmechanismus bestimmt. Er ist in der belebten Natur vielfach zu finden, in der unbelebten Natur ohne Beispiel. In der Technik findet seine Anwendung regen Gebrauch. Eines der einfachsten Modelle ist die Regelung der Raumtemperatur: soll eine bestimmte Temperatur eingehalten werden, so wird im Moment eines Absinkens unter den gewünschten Wert die Heizleistung gesteigert, wodurch zwangsläufig der Raum wärmer wird. Sofern die gewünschte Temperatur überschritten ist, wird die Heizleistung gedrosselt, wodurch der Raum wieder kälter wird usw. Wesentlich am Regelkreis ist somit ein Informationsfluß, der entgegen der Reaktionskette läuft und dadurch einen Kreis schließt. Aus diesem Grunde ist die zeitliche Änderung anders als beim Gleichgewicht. Ein weiterer fundamentaler Unterschied ist das gegenläufige Verhalten der Schlüsselgrößen: ein Absinken der Temperatur hat eine Steigerung der Heizleistung zur Folge und umgekehrt. Entscheidend ist ferner, daß zur Änderung der Heizleistung nur ein verhältnismäßig geringer Bruchteil der abgegebenen Energie erforderlich ist. Nachdem auch die Antikörperproduktion einem Regelkreis gehorcht, bedeutet ein Anstieg der Antikörperkonzentration im Blut, welches die Regelstrecke darstellt, daß die Neubildung gehemmt wird, während ein Absinken der Konzentration eine gesteigerte Synthese bewirkt (37).

Die Rückkoppelung hat für den Organismus den Vorteil, daß der gewünschte Konzentrationsbereich selbst bei rasch wechselnden und erheblichen Einflüssen eingehalten wird und zu-

dem den Vorzug eines geringen, dafür erforderlichen abzu-
zweigenden Energiebedarfs.

Die Antikörperbildung wird schließlich auch über eine Stör-
größenaufschaltung beeinflusst. Es handelt sich hierbei um
einen Vorgang, der unabhängig vom Prinzip der Rückkoppe-
lung die Regelung der Antikörperproduktion mitbestimmt.
Dies ist im Falle der Regelung der Antikörperproduktion
durch die Elimination des Antigens nach Bildung von Immun-
komplexen gegeben.

Da die Induktion der Antikörperbildung durch ein Antigen
ausgelöst wird, ist der Reiz zur Produktion durch dieses
Antigen dann geringer, wenn es durch den Antikörper gebun-
den und eliminiert wird, wobei der Zeitfaktor von größter
Bedeutung ist: erfolgt der Abtransport rasch, so gleicht
die Kinetik der Immunantwort derjenigen einer sog. Primär-
antwort, während bei verzögerter Elimination des Antigens
eine verstärkte Immunantwort zu ebobachten ist, die den
Charakter einer sog. Sekundärantwort annehmen kann. Der-
artige Zusammenhänge können auch im klinischen Bereich von
Bedeutung sein, wie es die Beispiele der Tetanusprophylaxe
im Rahmen der Simultanimpfung und die Rhesus-Prophylaxe
mit passiver Zufuhr spezifischen Antikörpers beweisen.
Erste Hinweise auf das Vorliegen eines Rückkoppelungsme-
chanismus und einer Störgrößenaufschaltung ergaben sich
aus der Tatsache, daß die primäre Immunantwort unterdrückt
werden kann, wenn ein Antigen mit einem Überschuß von Anti-
körpern vor der Injektion vermischt wird (3,34,36). Diese Hem-
mung hat die Anwendung spezifischer Reagenzien zur Voraus-
setzung und läßt somit vermuten, daß die inhibitierende Wir-
kung allein durch die Bindung und Blockierung des Antigens
erreicht wird (20,21,38). Abgesehen von einer beschleunigten
Eliminierung des geformten Immunkomplexes und der damit ver-
bundenen raschen Antigenentfernung scheint die Blockierung

der antigenen Determinanten nicht die einzige Erklärung zu sein, da es offenbar genügt, nur eine begrenzte Anzahl von antigenen Determinanten zu besetzen, um eine signifikante Behinderung der Immunantwort zu erreichen (7,36). Die Ergebnisse lassen auf eine Hemmung der Immunreaktion durch eine Veränderte Verteilung des Antigen-Musters durch die teilweise Besetzung der antigenen Determinanten schließen, worauf der Kontakt mit der immunologisch kompetenten Zelle nicht mehr erfolgen kann (1). Die Isolierung der antigenen Determinanten von der potentiell Antikörper-bildenden Zelle nach Eingehen des Komplexes in vivo oder in vitro kann im Verlaufe der weiteren Vorgänge aufgehoben werden, indem das Antigen der Elimination aus dem Organismus eher widersteht als der Antikörper. In diesem Falle begegnet man nach der Verabreichung von Immunkomplexen einem verzögerten Auftreten der Primärreaktion (38).

Paradoxerweise kann die Gegenwart des Antikörpers die Antikörperproduktion gelegentlich auch stimulieren. Dies gilt im allgemeinen nur für lösliche Proteine, die allein schwache Antigene sind und erst im Komplex mit dem Antikörper eine stärkere Immunogenität entwickeln (23). Diese Erscheinung ist ursächlich noch nicht aufgeklärt. Die Möglichkeit einer Deutung ergibt sich aus der Tatsache, daß die Zufuhr eines Antikörpers die Abbaurate des Antigens wesentlich herabsetzen kann, wie dies an der Ratte mit Albumin gezeigt werden konnte (1). Anders verhält es sich bei partikulären Antigenen; sie werden durch Bindung mit Antikörpern meist weniger antigen. Untersuchungen darüber liegen in heterologen Systemen bei Tieren (14,21) und im homologen System beim Menschen vor (4).

Wenn auch der Antikörper seine eigene Neubildung durch seine bloße Anwesenheit hemmt, machen Untersuchungsergebnisse die Bedeutung der Antikörper bei der Regulation der Immunantwort auch dann wahrscheinlich, wenn die Induktion der Antikörper-

synthese bereits stattgefunden hat. Der passiv zugeführte Antikörper kann nämlich die Produktion noch unterdrücken, nachdem der Antigenkontakt einige Tage (11, 29) bis zu 2 Monaten zurückliegt (40)! In diesem Falle kann eine Behinderung der Immunantwort nicht allein durch die antikörperbedingte Markierung der antigenen Determinanten, die man auch i.S. einer peripheren Behinderung verstehen kann, erklärt werden. Vielmehr ist ein direkter Effekt der Immunglobuline auf Zellen, die ihre Produktion zur Aufgabe haben, anzunehmen. Diese zelluläre Wirkung muß demzufolge als zentrale Behinderung bezeichnet werden (28, 38)!. Die Forderung einer zentralen Hemmung wird durch die Erkenntnis gestützt, daß durch Inkubation von Milzzellen unsensibilisierter Tiere mit einem Antiserum, etwa gegen Fremderhythrozyten, diese Zellen bei einem späteren Kontakt mit dem Antigen eine verminderte Reaktion erkennen lassen. Unter Bezugnahme auf verschiedene Antigene lassen sich allerdings nicht selten widersprüchliche Ergebnisse erzielen (28, 38). Arbeitet man im einheitlichen System unter Verwendung von Zellen aus dem Ductus thoracicus an Stelle von Milzzellen, so läßt sich eine Behinderung der Antikörperbildung nicht mehr nachweisen. Die Ergebnisse lassen in diesem Falle auf das Vorliegen von cytophilien Antikörpern schließen, die sich an Makrophagen anlagern und auch durch Waschen nicht mehr entfernen lassen (28, 38). Die Wirkung dieser passiv übertragenen cytophilien Antikörper wäre in der Blockierung und Änderung des Verteilungsmusters antigenen Determinanten auf Zelloberflächen zu sehen. Doch lassen sich diese Experimente nicht an allen Tierarten mit dem gleichen Resultat nachvollziehen, wenn auch diese Ergebnisse oftmals annähernd erzielt werden. Durch sorgfältiges Waschen läßt sich die erwähnte Inhibition indes wieder aufheben, woraus ersichtlich ist, daß in der Tat cytophile Antikörper vorgelegen

haben. Umgekehrt kann eine verlängerte Inkubation die zentrale Hemmung nicht verstärken, was wiederum als Hinweis auf eine nur kurzlebige zentrale Inhibierung der Immunantwort in Abwesenheit von Antikörpern schließen läßt (41).

Seit der Aufklärung der Antikörperstruktur durch die grundlegenden Arbeiten von Porter (26) ist bekannt, daß das Immunglobulinmolekül - aus Gründen der Übersichtlichkeit sei hier das IgG behandelt - aus jeweils 2 schweren, klassenspezifischen und 2 leichten Ketten besteht, die untereinander durch Disulfid-Brücken verbunden sind. Das Molekül ist daher dergestalt geformt, daß an einem Ende, das auf Grund der begrenzenden Amidgruppe N-Terminal genannt wird, jeweils 2 aus einer leichten und einer schweren Kette gemeinsam geformte Strukturen vorliegen, woraus sich die Bivalenz der Immunglobuline erklärt. Nachdem die Rückkoppelung erwiesenermaßen spezifisch ist und damit allein dem Antigen-bindenden Anteil des Antikörpermoleküls zukommt, ist es nahelegend gewesen, das Molekül zu spalten und die Inhibierung der Immunantwort nach Übertragung der einzelnen Bruchstücke zu prüfen. Erwartungsgemäß ließ sich eine Hemmung der Immunantwort nur durch die Antigen-bindenden Fab-Fragmente erzielen (35).

Sowohl 19S (24,40) als auch 7S (40) Antikörper zeigen eine deutliche Verzögerung in ihrer Produktionsrate, wenn die Induktion gehemmt worden ist. Dies läßt den Schluß auf eine zentrale Hemmung nur bedingt zu, da es ebenso denkbar ist, daß die Antikörper direkt mit dem Antigen in Kontakt getreten sind. Das Schema einer Konstellation Zelle-Antikörper ist jedoch insofern stark vereinfacht, als es unterschiedliche Antikörper gleicher Spezifität und auch verschiedene "Immunzellen" gibt. Nimmt man eine von Antikörpern induzierte Hemmung der Immunreaktion auf dem Boden einer Blockade antigener

Determinanten an, dann kann der Einfluß von Antikörpern bei passiver Zufuhr nach dem Höhepunkt der Synthese nur über eine Heterogenität der Zellpopulation erklärt werden, wobei während der frühen Phase der Primärantwort die Zellen in Abwesenheit des Antigens nur kurzlebig sind (41). Autoradiographisch gewonnene Ergebnisse stützen diese Ansicht.

Es konnte gezeigt werden, daß die Mehrzahl der Plasmazellen der Maus (39) und anderer Nager (5) eine Lebenszeit von 48 Stunden haben und nur eine kleine Anzahl mehrere Monate überleben kann (18). Wenn Plasmazellen auch in der Gegenwart des Antigens kurzlebig sind, muß angenommen werden, daß die Induktion der Primärantwort die Lebenszeit der Plasmazellen nicht verlängert (6, 39).

Diese Vorstellung erklärt die Widerstandsfähigkeit der 7S-Immunglobulin-bildenden Zellen gegen die antikörperbedingte Hemmung der Immunantwort, sofern diese lange Zeit nach Antigenkontakt versucht wird (40). In dieser späten Phase ist das Antigen nur noch zu einem geringen Teil verfügbar und auch die Rate der neu rekrutierten 7S-Immunglobulin-produzierenden Zellen ist minimal. Insofern sind die offenbar unbeeinflussbaren Zellen der langlebigen Gruppe zuzurechnen (18). Andererseits muß berücksichtigt werden, daß die Spezifität und damit die Bindungsfähigkeit später auftretender Antikörper zunimmt. Sie kann auf das 10^3 fache ansteigen (10).

Da für die Erkennung des Antigens durch die immunkompetente Zelle ein antikörperähnlicher Rezeptor auf der Zelloberfläche vorliegen muß, bedeutet die passive Zufuhr des Antikörpers die Entwicklung einer Konkurrenzreaktion um die noch freien antigenen Determinanten. Dementsprechend haben Zellen mit einer hohen Bindungsfähigkeit einen Vorteil ge-

genüber Zellen mit einer niedrigen Avidität mit Bezug auf den Rezeptor. Dieser Vorteil wiegt insbesondere dann schwer, wenn das Antigen in geringer Konzentration verfügbar ist. Diese Überlegungen wurden durch die Beobachtung einer nur langsam ansteigenden Avidität bei hoher Antigendosis bestätigt (13,33). Weiterhin ließ sich jüngst zeigen, daß die für den Anstoß der DNA-Synthese erforderliche Anzahl sensibilisierter Zellen umgekehrt der Affinität ihrer Antikörper ist (25).

Die Hemmung der Primärantwort durch Antikörper beschränkt sich auf die Immunglobulinklassen IgM und IgG, gleichbedeutend mit 19S- und 7S-Immunglobulinen (11,20,21,25). Im allgemeinen sind die 19S-Antikörper weniger effektiv (11,21), wobei allerdings berücksichtigt werden muß, daß dies nur im Vergleich zu den späten 7S-Immunglobulinen gilt (40), da hier die Avidität um einige Zehnerpotenzen höher liegen kann. Die Kenntnisse über den Rückkoppelungsmechanismus lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: 1. der Effekt ist spezifisch 2. er ist dem Fab-Fragment zuzuordnen 3. er kann erst nach einer Latenzphase demonstriert werden 4. die Hemmung erfolgt über eine Verminderung der antikörperbildenden Zellen, nicht durch eine Herabsetzung der Antikörperbildung in den einzelnen Zellen 5. das immunologische Gedächtnis wird davon nicht berührt 6. die Wirkung nimmt nach der Induktion der Antikörperbildung stetig ab 7. die Effizienz der Antikörper korreliert mit ihrer Avidität.

Das Vorliegen eines Rückkoppelungsmechanismus im isologen System und der Nachweis, daß allein der antigenbindende Anteil des Antikörpermoleküls wirksam ist, ließ vermuten, daß die Spezifität der Immunglobuline wichtiger ist als deren Herkunft. Aus diesem Grunde war es naheliegend, Antikörper gleicher Spezifität im homologen und heterologen System zu prüfen. Erwartungsgemäß gelang eine Unterdrückung der Pri-

märantwort auch nach Zufuhr von fremden Antikörpern (30). Damit war zugleich das Problem einer peripheren oder zentralen Hemmung erneut aufgeworfen. Nachdem aber ein Rückkoppelungsmechanismus auch dann nachweisbar war, wenn im Parabioseversuch die Antikörper nach Eliminierung des Antigens zugeführt wurden, muß zumindest eine zentrale Komponente angenommen werden (31).

Die Hemmung der Antikörperbildung auf dem Boden einer passiven Zufuhr von Immunglobulinen hat daran denken lassen, den gleichen Effekt durch sensibilisierte Zellen zu erzielen. Die Inokulation genetisch differenter lebender Zellen wurde früher vorgenommen, um durch Substitution mit den durch die verpflanzten Zellen produzierten Stoffen einen therapeutischen Erfolg zu erreichen. So sollte eine mangelhafte oder gar fehlende Produktion von Hormonen durch fremde Organzellen ersetzt werden (2). Damit schien erwiesen, daß Zellen in einem fremden Organismus zumindest für eine bestimmte Zeit in der Lage sind, ihre ursprüngliche Funktion aufrecht zu erhalten. Der unterschiedliche Erfolg wurde zunächst auf unkontrollierbare Verhältnisse insbesondere in der Versorgung der inokulierten Zellen mit Sauerstoff und organischen Substanzen zurückgeführt. Später wurde klar erkannt, daß es sich um immunologische Mechanismen handelte, die sich gegen die übertragenen Zellen richteten und je nach Konsolidierung des Zellverbandes und Antigenmuster der Zelloberfläche früher oder später den Zelltod herbeiführten. Diese Überlegungen haben prinzipiell für alle Organzellen Gültigkeit. Daher war es zu erwarten, daß dies bei Zellen des Immunsystems in gleicher Weise demonstriert werden kann.

Die Frage der Aktivität immunkompetenter Zellen nach der Verpflanzung wurde durch zahlreiche Experimente beantwortet. Erste Hinweise auf ein Fortbestehen der Zellfunktion lieferte das Phänomen der sog. runt-disease (42). Hierbei ist eine deletäre Erkrankung von Tieren gemeint, deren Immunsystem gestört ist und die fremde immunkompetente Zellen inokuliert erhielten. Die fremden Zellen wurden in diesem Falle nicht attackiert und blieben unbegrenzt funktionstüchtig. Da sie nun ihrerseits den Wirt als fremd erkennen, beginnen sie dessen Strukturen zu attackieren, so daß eine chronisch progrediente Krankheit entsteht. Dabei ist es ohne Belang, ob das Immunsystem des Empfängers künstlich blockiert oder noch unreif ist. Selbst im immunologisch ungestörten Tier kann unter besonderen genetischen Voraussetzungen eine runt-disease auf dem Boden einer sog. graft-versus-host-reaction auftreten, etwa im Falle einer Übertragung von Zellen aus F₁-Hybriden auf die genetisch reinen Elterntiere. Andererseits kann bei genetischer Identität ein verlorenes Immunsystem durch Transplantation immunkompetenter Zellen vollkommen restituiert werden (7). Generell gilt bei derartigen Experimenten, daß Zellen nach der Übertragung umso längere Zeit überleben, je geringer die Gewebsunverträglichkeit (Histoinkompatibilität) ist.

Derartige Ergebnisse ermutigten zur passiven Übertragung sensibilisierter Zellen auch beim Menschen. Hier wurden vornehmlich Patienten mit einem gestörten Immunsystem ausgesucht, etwa mit dem Unvermögen, auf Tuberkulin zu reagieren, aber mit einer gegenüber anderen Antigenen ungestörten Immunreaktion. Durch Übertragung von Lymphozyten, die von Tuberkulin-positiven Personen stammten, ließ sich eine Reaktion bei den zuerst negativen Personen auslösen, selbst

wenn eine genetische Übereinstimmung nicht vorlag (19). Da die Übertragung intakter Zellen die Gefahr der Fremdsensibilisierung in erhöhtem Maß in sich birgt, wurde versucht, das gleiche Ergebnis durch Übertragung von Zellbruchstücken zu erreichen. Es zeigte sich, daß eine Inkubation unstimulierter Zellen mit Ribosomen oder gar nur deren RNA, sofern sie aus sensibilisierten Lymphozyten gewonnen worden war, zur spezifischen Antikörperproduktion befähigte (12). Dieses Phänomen gelingt naheliegenderweise insbesondere bei den genetisch identischen Tieren eines Inzuchtstammes. Es konnte jedoch selbst am Menschen in gewisser Weise trotz Histoinkompatibilität demonstriert werden: wieder war es die Tuberkulinreaktion, die sich durch Zelllysate sensibilisierter Spender auf reaktionslose Individuen übertragen ließ. Gleiches gelang auch an anderen Modellen (17).

Wie bei den Tierversuchen handelt es sich beim Menschen um eine hochmolekulare Substanz, die auf Grund der Inaktivierbarkeit durch spezielle Enzyme als RNA bezeichnet werden muß. Doch ist die Natur dieses sog. transfer-factor noch nicht vollkommen erforscht, da möglicherweise neben der RNA auch das entsprechende Antigen eingeschlossen ist. Damit wäre die Rolle der RNA bzw. der durch sie übermittelten Information in Frage gestellt, da vielleicht das Antigen, wenn auch in besonders immunogener Form, für das Phänomen der zellfreien Immunitätsübertragung verantwortlich ist. Die Möglichkeit, mit sensibilisierten Lymphozyten in den Rückkoppelungsmechanismus der Antikörperbildung einzugreifen, veranlaßte zu entsprechenden Untersuchungen. Tatsächlich ließ sich die Immunantwort unterdrücken, wenn Zellen, die mit dem selben Antigen vorsensibilisiert waren, zugleich mit der Sensibilisierung auf andere Tiere übertragen wurden (22).

Da diese Versuche am isologen Modell vorgenommen wurden, mußte die Deutung der Ergebnisse noch die Sekundärreaktion dieser Zellen im histokompatiblen Empfänger berücksichtigt werden. Als weiterer Schrittt bot sich an, entsprechende Untersuchungen an Tieren verschiedener Spezies vorzunehmen. Inder Tat ließ sich eine Hemmung der Primärantwort auch dann erreichen, wenn Zellen fremder Tierspezies übertragen wurden (31). Dies war nicht von vornherein zu erwarten, da hier auf Grund der verschiedenen Gewebsgruppen die inokulierten Zellen der Immunabwehr anheim fallen mußten.

Es blieb somit offen, ob die Hemmung der Immunantwort den durch die Zerstörung der Zellen freigewordenen Antikörpern oder etwa aktiv produzierten Antikörpern zuzuschreiben war. Weiterhin schien es möglich, daß die Information zur Antikörperbildung durch freigewordene Zellbruchstücke weitergegeben worden war, wie dies in Form des transfer-factor gelingt. Aus diesem Grunde wurden in den vorliegenden Untersuchungen subzelluläre Fraktionen sensibilisierter immunkompetenter Zellen zugleich bei der Sensibilisierung im isologen und homologen System übertragen. Weiterhin waren Tiere gegen diese Zellen sensibilisiert worden, ehe die Übertragung intakter Zellen vorgenommen wurde. Zur Demonstration der zellulären Antikörperbildung als Kriterium der Stärke der Primärantwort fand die Plaque-Technik Anwendung.

Material und Methoden

1. Tiere

Die Immunantwort wurde bei Mäusen des Inzuchtstammes C57bl verfolgt. Die Tiere waren mindestens 3 Monate alt. Es handelte sich ausschließlich um weibliche Exemplare. Sie wogen im Schnitt 30 g.

Sensibilisierte Zellen und die daraus gewonnenen subzellulären Fraktionen wurden Mäusen der Inzuchtstämme C57bl und CBA sowie Wistar-Ratten entnommen.

2. Gewinnung sensibilisierter Zellen

Jeweils 6 Tiere der Inzuchtstämme C57bl und CBA sowie 4 Wistar-Ratten wurden mit 5×10^8 Hammelerythrozyten (HE) sensibilisiert. Nach 8 Tagen wurden die Tiere getötet und die Milz entfernt. Das von Fett und Bindegewebe befreite Organ wurde durch ein steriles Metallgitter mit einer Porengröße von 50μ gepreßt. Die einzelnen Milzzellen wurden serumfrei gewaschen. Die Zellen eines Tierstammes wurden jeweils gepoolt und anschließend gezählt.

3. Gewinnung subzellulärer Fraktionen

Die isolierten Milzzellen wurden in Tris-gepufferter Saccharose unter Zusatz von EDTA im Eisbad einer N-Atmosphäre von 70 atü ausgesetzt und durch rasche Dekompression zerstört. Anschließend wurde das Gemisch aus Zelltrümmern und Proteinen in der Ultrazentrifuge geschleudert. Der Trennvorgang war bei einer Drehzahl von 40000 upm nach 60 min. beendet, wobei sich die Zellorganellen in der unteren Phase und die lösliche Fraktion in der überstehenden Phase befanden. Die so getrennten subzellulären Fraktionen wurden mit gepufferter NaCl-Lösung isoton und isoion eingestellt.

4. Primäre Immunantwort nach Übertragung subzellulärer Fraktionen sensibilisierter Milzzellen

Mäuse des Inzuchtstammes C57bl wurden durch i.p. Applikation von 5×10^8 HE sensibilisiert. Jeweils 6 Tiere erhielten noch am selben Tag ebenfalls i.p. subzelluläre Fraktionen, und zwar getrennt die lösliche Fraktion und die Organellen von C57bl- oder CBA-Mäusen. Es wurde jeweils Material übertragen, das von $0,8 - 1 \times 10^4$ Zellen stammte, die gegen HE 7S-Immunglobuline bildeten.

Kontrollen wurden ebenfalls sensibilisiert. Sie erhielten nach der gleichen Methode präparierte subzelluläre Fraktionen von Normaltieren. Eine weitere Kontrollgruppe erhielt allein HE zur Sensibilisierung.

Die Primärantwort wurde 8 Tage später durch Bestimmung der zellulären Antikörperbildung quantitativ erfaßt.

5. Primärantwort nach Übertragung vitaler sensibilisierter Zellen auf histoinkompatible Tiere

Jeweils 6 Mäuse des Stammes C57bl wurden durch insgesamt dreimalige, in wöchentlichem Abstand vorgenommene i.p. Applikation von $3 - 6 \times 10^8$ Milzzellen von CBA-Mäusen und Wistar-Ratten gegen diese Zellen sensibilisiert. Nach einem Intervall von ca. 30 Tagen wurden die so vorbereiteten Tiere mit 5×10^8 HE sensibilisiert. Am gleichen Tage erhielten diese Tiere $0,8 - 1 \times 10^4$ Milzzellen des selben Stammes, gegen die sie bereits sensibilisiert waren. Die inokulierten Zellen bildeten 7S-Immunglobuline ebenfalls gegen HE.

Kontrollgruppen, die nicht gegen die Zellen der CBA-Mäuse und Wistar-Ratten sensibilisiert worden waren, wurden nach dem gleichen Schema behandelt. Schließlich erhielt eine weitere Gruppe lediglich HE.

Die Primärantwort wurde 8 Tage nach der Sensibilisierung mit HE durch Bestimmung der zellulären Antikörperbildung quantitativ erfaßt.

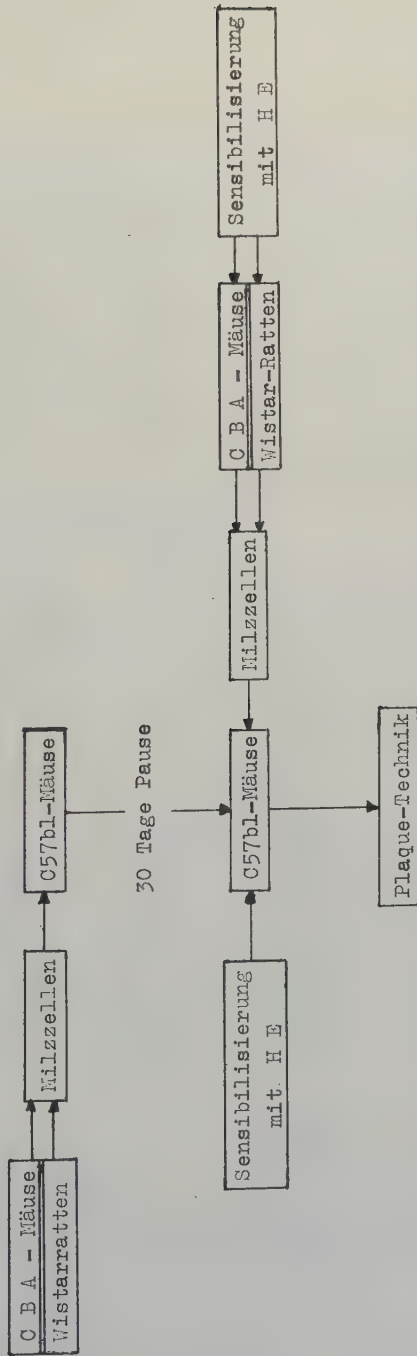
6. Nachweis der zellulären 19S- und 7S-Antikörperbildung

Einzelne antikörperbildende Zellen wurden in üblicher Weise mit der Plaque-Technik (9,15,16) nachgewiesen. Hierzu wurden die Versuchstiere getötet und die Milz entnommen. Das von Fett und Bindegewebe befreite Organ wurde durch ein steriles Metallgitter gedrückt. Die einzelnen Milzzellen wurden serumfrei gewaschen und gezählt. Sie wurden zusammen mit HE in gepuffertem Agar ausgegossen, wobei auf 10^6 Milzzellen 4×10^8 HE kamen. Nach Festigung der Agarschicht wurden die Platten für 60 min. bei 37°C in einer Normalatmosphäre inkubiert. Bei der direkten Technik zum Nachweis der 19S-Immunglobulinproduzenten (DPMZ) wurde nach Überschichtung mit Komplement (Behring) eine weitere Bebrütung angeschlossen. Danach konnten die DPMZ durch hämolytische Höfe identifiziert werden. Zum Nachweis der 7S-Immunglobulinbildner (IPMZ) mit der indirekten Technik wurde als Zwischenschritt die Zugabe von Antimauglobulin (Hyland) eingeschaltet, bevor Komplement zugefügt wurde. Die Identifizierung der Zellen erfolgte in gleicher Weise.

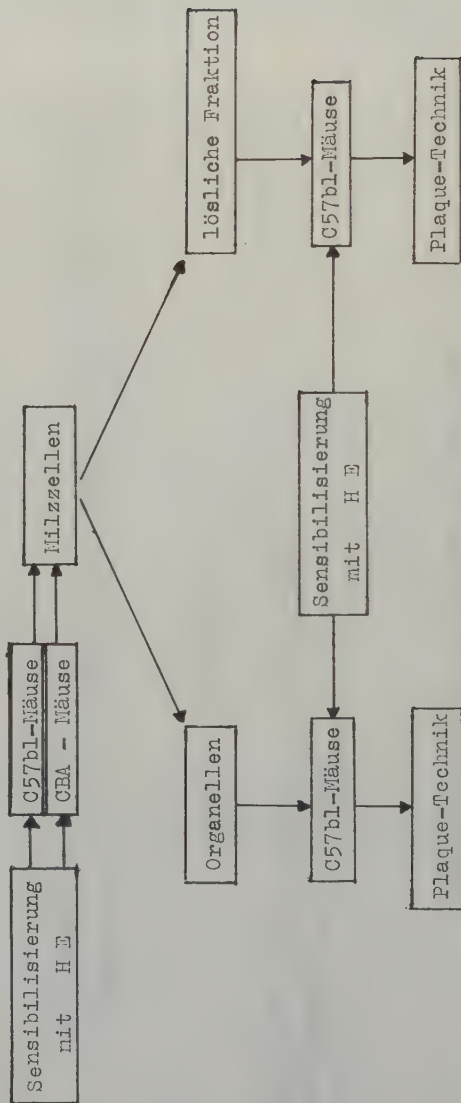
Eine schematische Darstellung der Einzelschritte bei den verschiedenen Versuchsreihen ist auf den Seiten 17 und 18 zu finden.

Nachweis der zur Beeinflussung der Primärantwort erforderlichen Vitalfunktion

übertragener antikörperbildender Milzzellen



Prüfung des Einflusses subzellulärer Fraktionen antikörperbildender Milzzellen auf die Primärantwort



Ergebnisse

Eine Primärantwort konnte in jeder Versuchsreihe ausgelöst werden. Sie fiel unterschiedlich stark aus, wobei innerhalb einer Serie die Minimal- und Maximalwerte den mehrfachen Betrag ausmachten. Aber auch in den verschiedenen Versuchsreihen wurde eine unterschiedliche Stärke der Primärantwort erreicht. Die Bestimmung der zellulären Antikörperbildung 8 Tage nach der Sensibilisierung bewirkte, daß nebeneinander die Synthese von 19S- und 7S-Immunglobulinen festgestellt werden konnte. Das Verhältnis von DPMZ und IPMZ wechselte, wobei sowohl 19S- als auch 7S-Immunglobulinproduzenten überwogen.

Primärantwort bei Transfer subzellulärer Fraktionen isolierter antikörperbildender Zellen

Im Vergleich zu Tieren, die lediglich mit HE sensibilisiert worden waren, bewirkte die Übertragung von Organellen antikörperbildender Milzzellen keine einheitliche Beeinflussung der Primärantwort; drei mal stieg sie unter dieser Behandlung an, einmal fiel sie ab. Auch im Vergleich zu den Tieren, die Organellen normaler Milzzellen erhalten hatten, ließ sich kein signifikanter Unterschied erkennen. Ähnliche Verhältnisse lagen bei Übertragung von löslichen Fraktionen sensibilisierter Zellen vor; hier war die Immunantwort nur einmal von vier Versuchsreihen gesteigert. Wiederum fehlte ein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Serie von Tieren, die lösliche Fraktion von Normalzellen erhalten hatten. Diese Beobachtungen gelten sowohl für die 19S- als auch für die 7S-Immunglobulinproduktion. (Tab. 1 und 2)

Primärantwort bei Transfer subzellulärer Fraktionen homologer antikörperbildender Zellen

Im Vergleich zu Tieren, die lediglich mit HE sensibilisiert worden waren, konnte nach der Übertragung von subzellulären

Fractionen homologer Zellen ebenfalls keine einheitliche Beeinflussung der Primärantwort nachgewiesen werden. Auch in diesen Versuchsreihen wurden sowohl eine Steigerung als auch eine Hemmung der Primärantwort beobachtet. Diese Feststellung gilt bei Gegenüberstellung der Serien mit löslicher Fraktion von antikörperbildenden und normalen Zellen ebenso wie bei den Serien, die Organellen von antikörperbildenden oder Normalzellen erhalten hatten. In gleichem Maße kann dies für die 19S- und die 7S-Immunglobulinsynthese ausgesagt werden. (Tab. 3 und 4)

Nachweis der erforderlichen Vitalfunktion übertragener homologer und heterologer antikörperbildender Zellen zur Unterdrückung der Primärantwort

Die Primärantwort äußerte sich in allen Versuchsreihen in einer verhältnismäßig konstant hohen Anzahl an PMZ, wobei DPMZ und IPMZ zahlenmäßig etwa in gleicher Stärke vertreten waren. Übertragung von normalen homologen und heterologen Zellen auf Tiere, die gegen HE sensibilisiert worden waren, bewirkte keine Unterdrückung der Immunantwort. Dies war jedoch der Fall, wenn antikörperbildende Zellen (von Tieren, die ebenfalls gegen HE sensibilisiert worden waren) auf Tiere inokuliert wurden, die gegen HE sensibilisiert worden sind. Die Hemmung drückte die entsprechenden Werte hier auf etwa 15%. Dieser Effekt war in den Fällen aufgehoben, wo diese Zellen auf Tiere übertragen wurden, die vorher gegen die homologen oder heterologen Zellen sensibilisiert worden waren. (Tab. 5 und 6)

Tab. 1

Zelluläre Antikörperbildung bei Primärantwort nach Transfer
subzellulärer Fraktionen antikörperbildender und normaler
isolierter Milzzellen

	DPMZ in 10^6	IPMZ in 10^6
ohne Transfer subzellulärer Fraktionen	I 539;557;595;620;651 II 8; 9; 10; 15; 19 III 31; 34; 35; 37; 54 IV 137;220;228;248;274	156;245;253;256;316 97;103;105;105;114 97;103;103;111;111 344;356;368;376;440
bei Transfer von Organellen	I 606;779;821;964;1051 II 6; 12; 19; 19; 20 III 18; 26; 30; 33; 38 IV 193;214;246;259;345	298;324;326;345;397 42; 49; 50; 67;132 47; 49; 50; 51; 63 336;440;448;520;976
bei Transfer der löslichen Fraktion	I 331;440;464;467;483 II 4; 9; 12; 13; 14 III 48; 59; 65; 68; 78 IV 74;126;134;136;142	174;215;230;243;246 39; 42; 55; 58; 77 142; 161;177;184;207 72;102;104;110; 150
bei Transfer von Organellen normaler Zellen	I 140;142;148;152;159 II 8; 8; 13; 13; 22 III 16; 18; 18; 24; 27 IV 88;116;123;126;159	282;358;489;511;550 56; 83; 85;101;114 27; 51; 65; 76; 77 140;156;186;190;220
bei Transfer der lösl. Fraktion normaler Zellen	I 231;284;358;365;372 II 7; 14; 18; 24; 29 III 7; 16; 20; 25; 36 IV 162;169;172;177;178	123;199;207;210;237 51; 61; 83;103;104 23; 24; 26; 33; 44 198;204;270;312;415

Die vier Versuchsserien sind jeweils in einer Zeile zusammengefaßt

Signifikanz: $p < 0,05$ bei globaler Erfassung der 5 Gruppen
in keinem Falle erreicht

Tab. 2

Primärantwort nach Transfer subzellulärer Fraktionen antikörperbildender und normaler isolierter Zellen

Durchschnittswerte (M) und Verhältnis (Q) zur Serie ohne Transfer von Fraktionen

	Serie I				Serie II				Serie III				Serie IV			
	DPMZ		IPMZ		DPMZ		IPMZ		DPMZ		IPMZ		DPMZ		IPMZ	
	M	Q	M	Q	M	Q	M	Q	M	Q	M	Q	M	Q	M	Q
OHNE Transfer subzellul. Frakt.	592	1,0	246	1,0	12	1,0	105	1,0	38	1,0	105	1,0	221	1,0	377	1,0
Organellen von antikörperb. Zellen	844	1,4	338	1,4	12	1,25	64	0,61	29	0,76	52	0,49	251	1,1	544	1,4
lösliche Fraktion antikörperb. Zellen	437	0,74	222	0,90	10	0,83	54	0,52	64	1,68	174	1,66	122	0,55	108	0,29
Organellen von Normalzellen	1554	2,62	438	1,78	13	1,08	88	0,84	21	0,55	67	0,64	122	0,55	178	0,47
lösliche Fraktion von Normalzellen	322	0,54	195	0,79	18	1,5	80	0,76	21	0,55	30	0,29	172	0,78	278	0,74

Tab. 3

Zelluläre Antikörperbildung bei Primärantwort nach Transfer subzellulärer Fraktionen antikörperbildender und normaler hämologer Milzzellen

	DPMZ in 10^6	IPMZ in 10^6
ohne Transfer subzellulärer Fraktionen	I 2; 4; 5; 8; 16 II 7; 7; 9; 14; 17 III 22; 37; 38; 44; 48	7; 8; 12; 18; 33 24; 31; 34; 38; 41 53; 58; 62; 72; 72
bei Transfer von Organellen	I 10; 10; 11; 11; 12 II 1; 6; 9; 12; 12 III 73; 77; 79; 80; 104	2; 3; 4; 5; 18 22; 22; 23; 27; 38 33; 52; 60; 65; 68
bei Transfer der löslichen Fraktion	I 0; 11; 11; 15; 20 II 6; 7; 7; 8; 9 III 57; 64; 75; 76; 80	0; 0; 5; 10; 35 15; 23; 23; 41; 50 76; 88; 95; 121; 135
bei Transfer von Organellen normaler Zellen	I 8; 9; 11; 12; 13 II 28; 42; 45; 49; 49 III 48; 67; 69; 73; 79	0; 2; 3; 4; 10 126; 140; 168; 170; 186 62; 67; 72; 84; 85
bei Transfer der löslichen Frakt. normaler Zellen	I 6; 6; 9; 10; 11 II 8; 11; 11; 12; 19 III 49; 62; 65; 67; 81	5; 5; 10; 15; 15 18; 24; 24; 32; 35 75; 76; 76; 96; 103

Die drei Versuchsserien sind jeweils in einer Zeile zusammengefaßt

Signifikanz: $p < 0,05$ bei globaler Erfassung der 5 Gruppen
in keinem Falle erreicht

Tab. 4

Primärantwort nach Transfer subzellulärer Fraktionen antikörperbildender und normaler homologer Zellen

Durchschnittswerte (M) und Verhältnis (Q) zur Serie ohne Transfer von Fraktionen

	Serie I				Serie II				Serie III			
	DPMZ		IPMZ		DPMZ		IPMZ		DPMZ		IPMZ	
	M	Q	M	Q	M	Q	M	Q	M	Q	M	Q
ohne Transfer subzellul. Fraktionen	7	1,0	16	1,0	13	1,0	34	1,0	38	1,0	63	1,0
Organellen von antikörperbild. Zellen	11	1,57	6	0,36	8	0,62	26	0,77	83	2,18	56	0,89
lösliche Fraktion von antikörperb. Zellen	10	1,43	10	0,63	7	0,53	30	0,88	70	1,84	103	1,63
Organellen von Normalzellen	11	1,57	4	0,25	43	0,34	158	4,64	67	1,76	74	1,17
lösliche Fraktion von Normalzellen	8	1,14	10	0,63	12	0,92	27	0,79	65	1,71	85	1,35

Tab. 5

Nachweis der erforderlichen Vitalität zur Unterdrückung
der Primärantwort durch antikörperbildende Milzzellen

	DPMZ in 10^6	IPMZ in 10^6	
I	190; 196; 201; 202; 210	136; 137; 149; 161; 170	Zellen von Wistar-Ratten
II	6; 11; 21; 22; 24	3; 11; 17; 17; 21	
III	173; 187; 198; 209; 210	149; 156; 161; 163; 168	
IV	188; 198; 210; 214; 220	131; 140; 149; 155; 163	
I	117; 125; 126; 131; 139	91; 112; 120; 121; 123	Zellen von CBA-Mäusen
II	11; 12; 21; 21; 24	4; 5; 8; 16; 18	
III	131; 128; 133; 138; 146	88; 95; 101; 109; 121	
IV	120; 128; 133; 138; 146	88; 96; 99; 107; 112	

I = C57bl-Mäuse, sensibilisiert gegen HE sowie mehrfach gegen Zellen von CBA-Mäusen oder Wistar-Ratten. Transfer von antikörperbildenden Zellen der CBA-Mäuse oder Wistar-Ratten

II = C57bl-Mäuse, sensibilisiert gegen HE. Transfer von antikörperbildenden CBA- oder Wistar-Ratten-Zellen

III = C57bl-Mäuse, sensibilisiert gegen HE. Transfer von normalen Zellen von CBA-Mäusen oder Wistar-Ratten

IV = C57bl-Mäuse, sensibilisiert gegen HE

Signifikanz: $p < 0,05$ gegenüber Gruppe IV nur in Gruppe II

Tab. 6

Unterdrückung der Primärantwort durch vitale antikörperbildende Zellen

Durchschnittswerte (M) und Verhältnis (Q) zur Serie
ohne übertragene fremde Zellen

	DPMZ		IPMZ		
	M	Q	M	Q	
I	200	0,97	151	1,02	Zellen von Wistar-Ratten
II	21	0,10	14	0,09	
III	195	0,95	159	1,07	
IV	206	1,00	148	1,00	
I	128	0,96	113	1,13	Zellen von CBA-Mäusen
II	18	0,14	10	0,10	
III	147	1,11	103	1,03	
IV	133	1,00	100	1,00	

- I = C57bl-Mäuse, sensibilisiert gegen HE sowie mehrfach gegen Zellen von CBA-Mäusen oder Wistar-Ratten. Transfer von antikörperbildenden Zellen der CBA-Mäuse oder Wistar-Ratten
- II = C57bl-Mäuse, sensibilisiert gegen HE. Transfer von antikörperbildenden CBA-Maus- oder Wistar-Ratten-Zellen
- III = C57bl-Mäuse, sensibilisiert gegen HE. Transfer von normalen Zellen von CBA-Mäusen oder Wistar-Ratten
- IV = C57bl-Mäuse, sensibilisiert gegen HE.

Diskussion

Bei der Erörterung der Ergebnisse müssen zunächst die Resultate im Hinblick auf die Werte der Serie ohne Transfer subzellulärer Fraktionen beleuchtet werden. Diese Gruppe ist ein Maßstab dafür, wie groß die Streuung des Milzgehaltes an PMZ sein kann sowohl mit Bezug auf die Sensibilisierung mit der selben HE-Suspension als auch mit Bezug auf die Stärke der Primärantwort bei unterschiedlichen, jedoch in gleicher Weise zubereiteten HE-Suspensionen. Daraus wird ersichtlich, daß jede Versuchsreihe mehrfach vorgenommen werden mußte. Eine Beeinflussung der Primärantwort kann dann nur in den Fällen angenommen werden, die stets eine gleichsinnige signifikante Veränderung der als Kriterium herangezogenen Größe, hier die Anzahl von PMZ, bewirken.

Unter Berücksichtigung dieser allgemein gültigen Betrachtungsweise kann auf Grund der Ergebnisse ausgesagt werden, daß die Übertragung von subzellulären Fraktionen antikörperbildender Milzzellen keinen Einfluß auf die Primärantwort erkennen läßt. Hierbei ist es weiterhin ohne Bedeutung, ob die Kerne und Mikrosomen enthaltende Organellenfraktion übertragen worden ist oder die lösliche Fraktion mit Proteinen und Salzen. Ebenso wenig läßt sich ein Unterschied bei Verwendung isologen oder homologen Materials erkennen.

Eine diesbezügliche Übereinstimmung war insofern nicht zu erwarten, als etwa bei der Übertragung von Organellen eine Induktion der Immunantwort des inokulierten Tieres im isologen System möglich erscheint. Hierbei ist allerdings zu bedenken, daß dies vor allem im unsensibilisierten Tier der Fall ist, während die optimale Stimulation diesen Effekt verschleiert. Aus diesem Grunde hat sich auch eine Beeinflussung des Rückkoppelungssystems nicht gezeigt. Diese bereits für das isologe

System gültigen Überlegungen machen verständlich, daß in den vorliegenden Experimenten auch im homologen System eine Beeinflussung der Primärantwort nicht erwartet werden kann. Als Ursache für das Unvermögen, die Immunantwort mit der Organellenfraktion zu beeinflussen, muß in erster Linie an die Möglichkeit gedacht werden, daß zu wenig Material übertragen worden ist oder das übertragene Material nicht die antikörperbildenden Zellen erreicht hat. Während der erste Einwand durch Steigerung der applizierten Menge geprüft werden kann, bleibt offen, ob es überhaupt möglich ist, in vivo Organellen in entsprechender Weise den Immunzellen anzubieten bzw. in sie einzuschleußen. Die Gewähr, daß durch die beschriebene Technik tatsächlich Organellen gewonnen worden sind, ist durch frühere in der selben Weise vorgenommenen Fraktionierungen und elektronisch-mikroskopische Kontrolle gegeben.

Wenn auch eine erkennbare Modulation der Primärantwort durch Organellen nur unter Vorbehalt zu erwarten ist, so muß angenommen werden, daß dies mit der löslichen Fraktion der antikörperbildenden Zellen gelingt. Da in ihr Antikörper enthalten sind, ist durch die Applikation eine Beeinflussung der Primärantwort analog zu Übertragungsversuchen mit Immunseren zu erwarten. Trotz gewisser Einwände kann diese Forderung im homologen und isologen System in gleicher Weise erhoben werden. Daß eine Hemmung der Primärantwort über eine Eliminierung des Antigens und eine Beeinflussung des Rückkoppelungsmechanismus nicht erfolgt ist, kann hier einwandfrei durch die zu geringe Menge erklärt werden.

Nachdem die selbe Anzahl antikörperbildender Milzzellen die Primärantwort im inokulierten Organismus signifikant ändern kann, darf angenommen werden, daß hier die übertragenen Zellen weiterhin Antikörper produzieren und dadurch die effektiv zur Verfügung stehende Menge an Antikörpern sehr groß ist.

Diese Vermutung wird bestätigt, wenn die letzte Versuchsanordnung berücksichtigt wird. Sie konnte demonstrieren, daß die übertragenen antikörperbildenden Zellen nur im Falle fortdauernder Vitalität dies vermögen. Deshalb war die Immunantwort in den gegen die fremden Zellen nicht sensibilisierten Tieren bis auf etwa 10% abgefallen, während sie bei den Tieren, die gegen die homologen und heterologen Zellen sensibilisiert waren, praktisch unverändert blieb. Ein Unterschied war diesbezüglich zwischen den homologen und heterologen Zellen nicht zu erkennen.

Die Untersuchungen haben somit ergeben, daß über subzelluläre Fraktionen antikörperbildender Zellen eine gegen das selbe Antigen gerichtete Immunantwort in der vorliegenden Versuchsanordnung nicht merklich beeinflußt wird. Dies ist eine Mengenfrage. Anhaltspunkte hierfür haben sich mit Bezug auf die lösliche Fraktion daraus ergeben, daß antikörperbildende Zellen nach ihrer Übertragung nur dann die gegen das gleiche Antigen gerichtete Primärantwort beeinflussen können, wenn sie noch weiter aktiv bleiben.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Die vorliegenden Untersuchungen sollten zeigen, inwieweit subzelluläre Fraktionen antikörperbildender Zellen in der Lage sind, im inokulierten Tier die Immunantwort gegen das selbe Antigen zu beeinflussen. Dies wurde an C57Bl-Mäusen geprüft. Als Quelle für die antikörperbildenden Zellen dienten C57Bl- und CBA-Mäuse. Die Fraktionen wurden mit der Ultrazentrifuge nach Zerstörung der Zellen in einer N-Atmosphäre getrennt. Transfer der Fraktionen und Sensibilisierung erfolgten am gleichen Tag. Die Primärantwort wurde 8 Tage später mit der Plaque-Technik quantitativ erfaßt. Dabei ließ sich eine Beeinflussung der Immunantwort weder mit Organellen noch mit löslicher Fraktion isolierter oder homologer antikörperbildender Zellen nachweisen. Daß dies als Mengenproblem aufzufassen ist, ließ sich in weiteren Versuchen im homologen und heterologen (Wistar-Ratten) System beweisen, indem eine Hemmung der Immunantwort durch inokulierte antikörperbildende Zellen nur dann erreicht wird, wenn sie auch weiterhin vital bleiben, während sie im vorsensibilisierten Tier beschleunigt eliminiert werden und die Immunantwort nicht unterdrücken können.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. Ada G.L. and Lang P.G.
Antigen in tissues. II. State of antigen in lymph node of rats given isotopically labelled flagellin, haemocyanin or serum albumin
Immunology 10; 431 - 443 (1966)
2. Brooks J.R.
Endocrine tissue transplantation
Springfield, Charles C. Thomas Co. 1962
3. Buxton J.B. and Glenney A.T.
The active immunization of horse against tetanus
Lancet 11; 1109 - 1111 (1921)
4. Clarke C.A.
Prevention of Rh-haemolytic disease
Brit. Med. J. 4; 7 - 12 (1967)
5. Cohen E.P.
Conversion of non-immune cells into antibody-forming cells by RNA
Nature (London) 462 - 465 (1967)
6. Cooper E.H.
Production of lymphocytes and plasma cells in the rat following immunization with human serum albumin
Immunology 4; 219 - 239 (1961)
7. Cudkowicz G.
Genetic regulation in bone marrow allograft rejection in mice in: Cellular interactions in the immune response
ed. S. Cohen, G. Cudkowicz, R.T. Mc Cluskey
S. Karger Basel-New-York 1971

8. Dixon F.J., Jacot-Guillarmod H. and Mc Cohaney P.J.
The effect of passively administered antibody on antibody synthesis
J. Exp. Med. 125; 1119 - 1136 (1967)
9. Dresser D.W. and Wortis H.H.
Use of an antiglobulin serum to detect cells producing antibody with low hemolytic efficiency
Nature 208; 859 (1965)
10. Eisen H.N. and Siskind G.W.
Variations in affinities of antibodies during the immune response
Biochemistry 3; 996 - 1020 (1964)
11. Finkelstein M.S. and Uhr J.W.
Specific inhibition of antibody-formation by passively administered 19S- and 7S-antibody
Science 146; 67 - 69 (1964)
12. Fishman M. and Adler F.L.
Antibody formation initiated in vitro II. Antibody synthesis in X-irradiated recipients of diffusion chambers containing nucleic acid derived from macrophages incubated with antigen
J. Exp. Med. 117; 595 - 611 (1963)
13. Goidl E.A., Paul W.E., Siskind G.W. and Benacerraf B.
The effect of antigen dose and time after immunization on the amount and affinity of anti-hapten antibody
J. Immunol. 100; 371 - 375 (1968)
14. Henry C. and Jerne N.K.
The depressive effect of 7S-antibody and the enhancing effect of 19S-antibody in the regulation of the primary immune response
Nobel Symp. 3; 421 - 429; Almqvist and Wiksell Stockholm

15. Ingraham I.S. and Bussard A.
Application of a localized hemolysin reaction for specific
detection of individual antibody forming cells
J. Exp. Med. 119; 667 (1964)
16. Jerne N.K. and Nordin A.A.
Plaque formation in agar by single antibody-producing cells
Science 140; 405 (1963)
17. Lawrence H.S.
Transfer factor
Adv. Immunol. 11; 196 - 267 (1969)
18. Miller III. J.J.
An autoradiographic study of plasma cell and lymphocyte
survival in rat popliteal lymph nodes
J. Immunol. 86; 331 - 338 (1964)
19. Mohr J.A., Killebrew L., Muchmore H.G., Felton F.G., Rhoades E.R.
The role of blood transfusion in man
J. Amer. Med. Ass. 207; 517 - 518 (1969)
20. Möller G.
Antibody induced depression of the immune response
A study of the mechanism in various immunological systems
Transplant. Bull. 2; 405 - 412 (1964)
21. Möller G. and Wigzell H.
Antibody synthesis at the cellular level. Antibody induced
suppression of 19S- and 7S-antibody response
J. Exp. Med. 121; 969 - 989 (1965).
22. Morris A. and Möller G.
Regulation of cellular antibody synthesis. Effect of
adoptively transferred antibody producing cells on
cellular antibody synthesis
J. Immunol. 101; 439 - 445 (1968)

23. Morrison S.L. and Terres G.

Enhanced immunologic sensitization of mice by the simultaneous injection of antigen and specific antiserum II! Effect of varying the antigen-antibody ratio and the amount of immune complex injected
J. Immunol. 96; 901 - 905 (1966)

24. Olhagen B., Birke G., Plautin L.O. and Ahlinder S.

¹³¹I- γ -globulin in hyperglobulinaemic states
in: Protides of the biological fluids
Proceedings of the 11th colloquium, Bruges 1964, p. 487-490
Elsevier, Amsterdam 1964

25. Paul W.E., Siskind G.W. and Bennacerraf B.

Specificity of cellular immune responses. Antigen concentration dependence of stimulation of DNA-synthesis in vitro by specifically sensitized cells as an expression of the binding characteristics of cellular antibody
J. Exp. Med. 127; 25 - 42 (1968)

26. Porter R.R.

The hydrolysis of rabbit γ -globulin and antibodies with crystalline papain
Biochem. J. 73; 119 - 126 (1959)

27. Rowley D.A. and Fitch F.W.

Homeostasis of antibody formation in the adult rat
J. Exp. Med. 120; 987 - 1005 (1964)

28. Rowley D.A. and Fitch F.W.

The mechanisms of tolerance produced in rats to sheep erythrocytes II. The plaque forming cell and antibody response to multiple injections of antigen begun at birth
J. Exp. Med. 121; 683 - 695 (1965)

29. Sahiar K. and Schwartz R.S.
Inhibition of 19S-antibody synthesis by 7S-antibody
Science 146; 67 - 69 (1964)
30. Scheiffarth F., Baenkler H.W. and Elizabeth Mahlberg
Suppression of 19S- and 7S-antibody-formation with
homologous and heterologous immunsera
Z. Immun.-Forsch. 141; 373 - 377 (1971)
31. Scheiffarth F., Baenkler H.W. and Mahlberg H.J.
Inhibition of 19S- and 7S-antibody-formation by adoptively
transferred heterologous and homologous immunized cells
Int. Arch. All. 42; 373 - 381 (1972)
32. Scheiffarth F., Baenkler H.W. and Thümmel H.H.
Regulation of antibody-formation in parabiosis
Res. Exp. Med. 157; 87 - 94 (1972)
33. Sisikind G.W., Dunn P. and Walker J.G.
Selective recruitment of immunocompetent cells during the
immune response
in: Cellular interactions in the immune response
ed. S. Cohen, G. Cudkowicz and R.T. Mc Cluskey, S. Karger
1971
34. Sterner L.A. and Eisen H.N.
Symposium on in vitro of the immune response
I. Variations in the immune response to a simple determinant
Bact. Rev. 30; 383 - 405 (1966)
35. Tao T.W. and Uhr J.W.
Capacity of pepsin-digested antibody to inhibit antibody
formation
Nature 212; 208 - 209 (1966)

36. Uhr J.W. and Baumann J.B.
Antibody formation. II. The specific anamnestic response
J. Exp. Med. 113; 959 - 972 (1961)
37. Uhr J.W. and Möller G.
Regulatory effect of antibody on the immune response
Adv. Immunol. 8; 81 - 127 (1968)
38. Urso P. and Makinodan T.
The roles of the cellular division and maturation in the
formation of precipitating antibodies
J. Immunol. 90; 897 - 907 (1963)
39. Wigzell H.
The rise and fall of 19S immunological memory against
sheep red blood cells in the mouse
Ann. Med. Exp. Fenn. 44; 209 - 215 (1966)
40. Wigzell H.
Studies on some factors regulating antibody synthesis
(Thesis, Stockholm 1967)
41. Wigzell H., Möller G. and Andersson B.
Studies at the cellular level of the 19S immune response
Acta path. microbiol. scand. 530 - 540 (1966)
42. Wilson D.B. and Billingham R.E.
Lymphocytes and transplantation immunity
Adv. Immunol. 7; 189 - 275 (1967)

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth danke ich ergebenst
für die Überlassung des Themas und die Übernahme des
Referates.

Seinem Assistenten, meinem Bruder Dr. H.W. Baenkler,
danke ich für die Beratung bei der Durchführung der
Experimente und der Erstellung des Manuskriptes.

Lebenslauf

Am 22.7.1947 wurde ich als 2. Kind des praktischen Arztes Dr. Hans Baenkler und seiner Frau Anneliese, geb. Seifert, in Bayreuth geboren. 1953 trat ich in die Volksschule ein, 1957 wechselte ich an das humanistische Gymnasium, an dem ich 1966 die Reifeprüfung ablegte. Im Wintersemester 1966/67 nahm ich das Studium der Medizin und der Theologie auf. Das medizinische Staatsexamen lege ich im Sommer 1972 ab.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990